

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
& DE PHARMACIE DE LYON

Année 1964 - N° 155

AGGLUTINATION
DE PARTICULES SENSIBILISÉES
DANS LE SÉRODIAGNOSTIC
DE LA TOXOPLASMOSE

Étude des Particules de Bentonite
et de Kaolin

*Travail du Laboratoire de Parasitologie et de Pathologie exotique
de la Faculté de Médecine de LYON - Professeur : Jean COUDERT*

THÈSE

Présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
et soutenue publiquement le 13 Octobre 1964
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Jean-Louis ROUSSEL

né le 24 mai 1939 à AMAILLOUX (D. S.)
ancien élève de l'École du Service de Santé Militaire

GRENIER & FILS
Imprimeurs
TASSIN (Rhône)
- 1964 -

AGGLUTINATION
DE PARTICULES SENSIBILISÉES
DANS LE SÉRODIAGNOSTIC
DE LA TOXOPLASMOSE

Étude des particules de Bentonite
et de Kaolin

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyens honoraires : M. J. LEPINE, membre de l'Institut ; M. H. HERMANN, Correspondant de l'Institut

Doyen : M. J.-F. CIER.

Assesseurs : MM. M. LEVRAT, L. REVOL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET, POLLOSSON

PROFESSEURS

Clinique urologique
Physique biologique

Clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale
Chimie organique et toxicologie
Clinique chirurgicale B
Clinique médicale B
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires
Clinique médicale C
Chimie biologique et médicale
Clinique chirurgicale A
Pharmacie galénique
Clinique obstétricale
Médecine du travail
Clinique médicale A
Hygiène et action sanitaire et sociale
Botanique et cryptogamie
Clinique chirurgicale C
Chimie analytique pharmaceutique
Pharmacie chimique et pharmacologie
Médecine légale et déontologie
Parasitologie et pathologie exotique
Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie
Clinique ophtalmologique
Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie
Clinique de pneumo-phthisiologie
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique
Clinique carcinologique
Anatomie pathologique
Pathologie générale et expérimentale
Anatomie
Pathologie chirurgicale
Clinique médicale D
Pathologie médicale
Physio-pathologie des voies respiratoires
Radiologie
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale
Bactériologie
Physiologie et pathologie obstétricales
Physiologie B
Clinique endocrinologique
Clinique de chirurgie orthopédique
Clinique stomatologique
Clinique de chirurgie et d'orthopédie infantiles
Matière médicale et législation pharmaceutique
Histologie et embryologie
Chimie
Physiologie A
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire
Clinique de chirurgie cardiaque
Clinique des maladies infectieuses
Biologie médicale et pharmacodynamie
Clinique gynécologique
Thérapeutique

MM. CIBERT
PONTTHUS
(détaché à Beyrouth)

DECHAUME
CHAMBON
WERTHEIMER
PAUPERT-RAVAULT
FROMENT
CROIZAT
ENSELME
MALLET-GUY
REVOL
PIGEAUD
BOURRET
LEVRAT
SOHIER
NETIEN
BERTRAND
BADINAND
DREYON
ROCHE
COUDERT
MOUNIER-KUHN
PAUFIQUE
THIERS
BRUN
CREYSSEL
DARGENT
GUICHARD
GIRARD Paul
LATARJET
PEYCELON
GIRARD Marcel
VACHON
GALY
PAPILLON
JEUNE
GONIN
MONNET
BANSHILLON
CHATONNET
GUINET
TRILLAT
FREIDEL
MARION Joseph
DORCHE
DUMONT Louis
PERROT
CIER J.-F.
PERRIN J.
MICHAUD Pierre
X...
X...
X...
X...

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine
Bactériologie
Neuro-chirurgie
Chimie pharmaceutique
Clinique de pédiatrie
Climatologie
Clinique chirurgicale propédeutique
Neuro-chirurgie
Médecine générale
Thérapeutique chirurgicale
Pharmacie chimique et pharmacologie
Médecine générale

MM. BERGER
BERTOYE
MANSUY
COLLET
SARROUY
LACROIX
LIARAS
LECUIRE
REVOL
GOINARD
CIER André
PONT Maurice

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
& DE PHARMACIE DE LYON

Année 1964 - N° 155

AGGLUTINATION
DE PARTICULES SENSIBILISÉES
DANS LE SÉRODIAGNOSTIC
DE LA TOXOPLASMOSE

Étude des Particules de Bentonite
et de Kaolin

*Travail du Laboratoire de Parasitologie et de Pathologie exotique
de la Faculté de Médecine de LYON - Professeur : Jean COUDERT*

THÈSE

Présentée

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
et soutenue publiquement le 13 Octobre 1964
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

Jean-Louis ROUSSEL

né le 24 mai 1939 à AMAILLOUX (D. S.)
ancien élève de l'École du Service de Santé Militaire

GRENIER & FILS
Imprimeurs
TASSIN (Rhône)
- 1964 -

PERSONNEL DE LA FACULTÉ (suite)

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Parasitologie	MM. ROMAN
Anatomie pathologique	FEROLDI
Physique biologique	MORET
Botanique et cryptogamie	ODDOUX
Chimie analytique	de SOLLIER
Médecine générale	DESPIERRES
Médecine du travail	TOLOT
Parasitologie	GARIN

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES TITULAIRES

Chimie biologique	MM. CREYSSEL Roger
Hygiène	THIVOLET
Electro-radiologie	PINET
Neuro-psychiatrie	GUYOTAT
Chirurgie générale	DESCOTES
Pathologie expérimentale	JOUVET
Physique biologique	PEYRIN
Anatomie pathologique	TOMMASI
Electro-radiologie	BUFFARD
Médecine générale et thérapeutique	LEJEUNE
Stomatologie	de MOURGUES F.
Maladies infectieuses	NAUSSAC
Chirurgie générale	REBOUILLAT
Pédiatrie	ROMAGNY
Médecine générale	DELAHAYE J.P.
Anesthésiologie	DELEUSE
Electro-radiologie, diagnostic et thérapeutique	GIRAUD
Anesthésiologie	MICHEL
Pédiatrie et puériculture	FRANCOIS
Chirurgie générale	MICHOULIER
Dermatologie	COLOMB
Médecine générale	LAMBERT
Médecine générale	FRIES
Pédiatrie	GILLY
Médecine générale	ROBERT
Anatomie	BOUCHET
Pédiatrie	BETHENOD
Immunologie, sérologie, hématologie	GERMAIN
Pédiatrie	LARBRE
Chirurgie générale	SOUSTELLE
Médecine générale	VIALA
Bactériologie, parasitologie, virologie	VINCENT
Pneumo-physiologie	KALB

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES STAGIAIRES

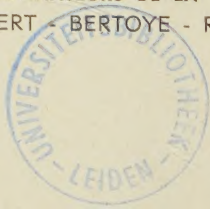
Hématologie	MM. FAYRE-GILLY
Histologie et embryologie	GIROD
Chimie biologique	GRAS
Chimie analytique	MALLEIN
Hygiène	RIFFAT
Biologie médicale et pharmacodynamie	FAUCON
Physiologie	FLANDROIS
Bactériologie	VIALIER-RAYNARD

AGREGES EN EXERCICE

Ophtalmologie	MM. BONAMOUR	Oto-rhino-laryngologie ..	GAILLARD
Médecine légale	COLIN	Médecine générale	GARDE
Chirurgie générale	DE MOURGUES G.	Ophtalmologie	HUGONNIER
Médecine générale	DEVIC	Chirurgie générale	MARET
Obstétrique	DUMONT Martial	Médecine générale	MORNEX
Urologie	DURAND	Médecine générale	NORMAND
Chirurgie générale	FRANCILLON	Médecine générale	PERRIN André
Chirurgie générale	SAUBIER	Stomatologie	DUMAS
Neuro-psychiatrie	SCHOTT	Obstétrique	GARMIER
Neuro-chirurgie	ALLEGRE	Médecine générale	NOEL
Electro-radiologie	CHASSARD	Orthopédie	SCHNEPP
Orthopédie	FAYSSÉ		

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. COUDERT - BERTOYE - REVOL - GARIN



A MES GRANDS-PARENTS

Le bonheur de mon enfance.

A MES PARENTS

Pour l'exemple qu'ils m'ont donné et l'affection dont ils m'ont entouré. Qu'ils trouvent ici la marque de mon amour filial et de ma reconnaissance.

A MA FEMME

Tout m'est joie à ses côtés.

A MES BEAUX-PARENTS

Je les remercie de leur confiance.

A MES FRERES ET SŒURS

AUX MIENS

A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. COUDERT

Professeur à la Faculté

Biologiste des Hôpitaux

Il nous a fait l'honneur de présider
notre Jury de thèse.

Nous le remercions de la grande
bienveillance avec laquelle il nous a
accueilli dans son Laboratoire et des
encouragements qu'il a bien voulu nous
donner.

Nous tenons à l'assurer de notre res-
pectueuse gratitude et de notre dévoue-
ment.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BERTOYE

Professeur à titre personnel

Médecin des Hôpitaux

Nous avons apprécié la valeur et la clarté de son enseignement.

Nous le remercions de l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail.

MONSIEUR LE PROFESSEUR L. REVOL

Professeur à titre personnel

Médecin des Hôpitaux

Il a mis à notre disposition, avec infiniment de complaisance, les observations de son service et nous a aidé de ses conseils.

Nous le remercions d'avoir bien voulu accepter de faire partie de notre Jury.

MONSIEUR LE PROFESSEUR J.-P. GARIN

Professeur sans chaire

Biologiste des Hôpitaux

Nous le remercions très respectueusement de la confiance qu'il nous a témoignée en nous proposant le sujet de notre thèse, et de l'aide compréhensive qu'il nous a apportée dans son élaboration.

Son enthousiasme et sa curiosité scientifiques ont toute notre admiration.

Qu'il croie à notre reconnaissance dévouée et respectueuse.

A MONSIEUR LE DOCTEUR J. DESPEIGNES

*Assistant de parasitologie à la Faculté
Assistant de biologie à l'Hôpital de la Croix-Rousse*

Il nous a confié tous les documents qu'il avait rassemblés sur le sujet pour lequel il se passionne et auquel il travaille depuis plusieurs années avec rigueur et précision.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre grande reconnaissance et de notre attachement.

A MADEMOISELLE LE DOCTEUR M.-R. BATTESTI

*Chef de travaux à la Faculté
Assistante de biologie à l'Hôpital Edouard-Herriot*

Elle nous a toujours accordé son aide avec une amabilité souriante. C'est un agréable devoir de lui dire ici notre respectueuse reconnaissance.

A MADAME SIMON

Qui a eu la gentillesse de nous faire profiter avec patience de sa grande expérience.

Nous remercions les Chefs de Service
qui nous ont permis de consulter leurs observations :

MESSIEURS LES PROFESSEURS

BERTOYE - BONAMOUR - BROCHIER - BRUN - CROIZAT
FRANÇOIS - JEUNE - MAGNIN - PAUFIQUE - PIGEAUD
REVOL - SARROUY

A TOUS CEUX
QUI NOUS ONT AIDE DANS CE TRAVAIL

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL INSPECTEUR BORON

Professeur agrégé du Val-de-Grâce

*Directeur de l'Ecole du Service de Santé Militaire
et de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes*

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL CAMELIN

Professeur agrégé du Val-de-Grâce

Directeur du Service de Santé Militaire de la 8^e Région

A MONSIEUR LE MÉDECIN COLONEL GROSSETETE

Bactériologiste des Hôpitaux de l'Armée

Médecin-Chef de l'Hôpital Militaire d'Instruction Desgenettes

A NOS MAITRES
DE LA FACULTE DE MEDECINE DE LYON
DES HOPITAUX CIVILS
DE L'HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION DES GENETTES

A MONSIEUR LE MÉDECIN LIEUTENANT-COLONEL CAUSSE

Spécialiste des Hôpitaux militaires
Chef du service de Neuro-Psychiatrie

Le semestre passé dans son service fut pour nous une initiation passionnante à la neurologie. Nous le remercions de la bienveillance avec laquelle il nous guida.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueux attachement.

A MONSIEUR LE MÉDECIN LIEUTENANT-COLONEL FELIX

Professeur agrégé du Val-de-Grâce
Chef du service de Médecine

Un semestre passé dans son service restera l'un des plus enrichissants de nos études.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueux attachement.

A MONSIEUR LE MÉDECIN COMMANDANT TOURETTE

A MESSIEURS LES MÉDECINS CAPITAINES
LACOSTE - LESBRE - DE TOFFOL

A MES CAMARADES
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE MILITAIRE

INTRODUCTION

Si l'isolement ou l'inoculation à l'animal du parasite, à partir d'éléments pathogènes, constituent la preuve péremptoire de la toxoplasmose, personne ne conteste plus actuellement, qu'à des titres significatifs, deux réactions peuvent faire porter un diagnostic positif.

Ce sont :

- le dye-test de SABIN et FELDMAN modifié en test de lyse par DESMONTS ;
- la fixation du complément.

Cependant, le test de lyse conserve une réputation de difficulté due :

— à la nécessité de posséder un facteur accessoire difficile à se procurer ;

— et à la valeur inégale des exsudats de souris qui nous met, comme le dit CATHIE, « *at the mercy of mice* ».

D'autre part, la fixation du complément exige une technique minutieuse et longue, pratiquée par un expérimentateur entraîné.

Aussi de nombreuses études dans différents laboratoires ont-elles cherché à révéler les anticorps spécifiques par des phénomènes d'agglutination conditionnée, ce qui permettrait des manipulations peut-être plus faciles.

On utilise des particules inertes comme support des fractions antigéniques solubles. Cet artifice accroît considérablement le volume occupé par l'antigène et favorise ainsi l'agglutination.

Après une revue succincte des différentes méthodes expérimentées, nous exposerons les deux procédés qui ont été étudiés au laboratoire de parasitologie de la Faculté de Lyon, sous la Direction du P^r J. COUDERT :

— l'agglutination des particules de :

— Bentonite

— Kaolin

Après l'étude technique, nous avons procédé à une enquête sérologique comparative pour mesurer la spécificité et la sensibilité de ces deux tests par rapport au test de lyse et à la fixation du complément.

Dans une dernière partie, nous avons rapporté les données cliniques qui correspondaient aux sérologies positives et discuté l'interprétation à donner aux résultats de ces tests.

Nous concluons enfin, que le test par agglutination de particules de Kaolin sensibilisées pourra dans l'avenir être valablement associé au test de SABIN et FELDMAN et à la fixation du complément.

HISTORIQUE

LES TESTS D'HEMOAGGLUTINATION

Le test d'hémoagglutination a été mis au point par JACOBS et LUNDE.

Des hématies de mouton soumises à l'action de l'acide tannique et mises en présence d'un lysat de toxoplasmes se sensibilisent aux anticorps correspondants et en présence de ces derniers donnent une hémoagglutination.

Il existe deux techniques à cette méthode :

A - Technique de MALONEY et KAUFMAN (1960).

Ces auteurs utilisent des globules rouges humains O-Rh négatif.

Pour le tannage, ils mettent une suspension d'érythrocytes à 5 % en présence d'un volume égal d'acide tannique à 1/40.000^e pendant 90 minutes à 37° C. Les hématies sont ensuite lavées à l'aide de sérum physiologique tamponné au phosphate (pH 7,2) et rediluées jusqu'au volume originel.

Pour la sensibilisation, l'antigène toxoplasmique obtenu par centrifugation de l'exsudat péritonéal d'une souris inoculée 4 ou 5 jours auparavant, et dilué dans un sérum physiologique, tamponné au phosphate (pH 6,4), est mis en présence des érythrocytes tannés et constamment agités pendant 30 minutes à la température de la pièce. Les globules rouges sont ensuite lavés et mis en suspension dans du sérum normal de lapin.

Pour la conservation, on ajoute du formol à une suspension de globules rouges à 12,5 % à raison d'un quart de volume de formol pour un volume d'érythrocytes.

Pour tester les anticorps toxoplasmiques d'un sérum sanguin donné, on ajoute 0,5 cm³ de sérum plus ou moins dilué (1/4, 1/8^e, 1/16^e, 1/32^e, etc...), à 0,05 cm³ de la suspension des globules rouges.

Après deux heures d'incubation à 37°C, on lit les résultats.

B - Technique de KARP (1961).

Les globules rouges de mouton sont lavés puis fixés à l'aide de la solution suivante :

Formol à 40 %	20 cm ³
Alcool éthylique à 95 % ..	5 cm ³
Eau distillée	75 cm ³

Le fixateur est éliminé par l'addition d'une solution tampon au bisulfite de soude à 5 % (pH 6,0-6,2). Il se forme ainsi un complexe formol-bisulfite qui est écarté par dialyse.

On ajoute alors aux globules rouges une solution d'acide tannique à 1/20.000^e et on les sensibilise en les mettant en présence de l'antigène toxoplasmique pendant 15 minutes à 37°C.

Le sérum sanguin à tester est inactivé au bain-marie pendant 30 minutes à 56°C, et mis en contact avec des érythrocytes de mouton non traités pour éliminer les anticorps non toxoplasmiques.

A ce sérum, dont on prépare des dilutions différentes (1/4, 1/8^e, 1/16^e, 1/32^e, etc...), on ajoute enfin des érythrocytes sensibilisés et on attend 2 heures à 37° C avant de lire la réaction.

LEWIS et KESSEL (1961) utilisent des globules rouges humains de type O, Rh positifs, auxquels ils ajoutent une solution d'acide tannique à 1/120.000^e. Aux érythrocytes tannés et sensibilisés on ajoute le sérum à tester et le mélange est placé à 2°C pendant 15 minutes.

**

Dans les infections toxoplasmiques aiguës, le test d'hémo-agglutination devient positif quelques jours après le

dye-test (JACOBS et LUNDE, MALONEY et KAUFMAN), mais à part cela il donne les mêmes résultats. D'après LEWIS et KESSEL, il donnerait même souvent des titres plus élevés.

WITMER, KESSEL estiment que la réaction d'hémoagglutination est moins sensible que la réaction de SABIN et FELDMAN.

MITCHELL et GREEN (1960) estiment qu'elle pourra être d'une grande valeur quand on aura obtenu la stabilité de l'antigène.

ANGELLILO et MANDRAS (1960) la considèrent comme une méthode utile et pratique pour le diagnostic de la toxoplasmose.

REUSS, par contre (1961), ne la recommande pas encore comme test de routine.

C - Test d'inhibition de l'hémoagglutination.

On détermine le plus petit taux d'anticorps toxoplasmiques nécessaire pour reproduire l'hémoagglutination. Si on ajoute alors à ce taux une petite quantité d'antigène toxoplasmique, il y aura liaison et dans ces conditions les anticorps ne produiront plus d'hémoagglutination. Il s'agit là d'une méthode très sensible qui peut aussi être utilisée pour détecter les anticorps toxoplasmiques dans l'humeur aqueuse (HALBERT, 1960).

**

Cette méthode de test par hémoagglutination est donc intéressante, la réaction est simple et sensible, mais les globules rouges doivent être frais et une fois sensibilisés, ils ne se conservent que quelques jours. On peut cependant les conserver en les traitant par le formol, lyophilisés, à la glacière, ou en deep-freezer ; ils restent alors propres à l'usage pendant au moins deux ou trois mois.

Néanmoins, les globules rouges présentent une structure complexe organique dont les qualités antigéniques propres ne sont pas toujours constantes et contrôlables et qui varient rapidement ; aussi s'est-on orienté vers l'utilisation de particules inertes comme support antigénique.

REACTION D'AGGLUTINATION DES PARTICULES DE COLLODION

(Test de CAVELTI).

(Thèse de COLY, 1955).

Un mélange à parties égales d'antigènes et d'une suspension de collodion est mis en incubation pendant 5 minutes. On lui ajoute ensuite le sérum à tester dilué à $1/10^e$, $1/50^e$, $1/100^e$, $1/1.000^e$, $1/2.000^e$, et inactivé par la chaleur. On vérifie jusqu'à quelle dilution on obtient l'agglutination des particules de collodion.

Les résultats obtenus avec cette méthode sont parallèles à ceux trouvés avec le test de lyse et la déviation du complément, si l'on a éliminé les sérums âgés ou hémolysés qui sont impropres à ce type de réaction.

Le titre est intermédiaire entre celui de la déviation du complément et celui du test de lyse.

Mais la préparation de la suspension de collodion est longue, 3 à 4 jours, et la réaction nécessite une importante quantité d'antigènes ; 1 ml. d'antigène permettant un test au collodion pour 2 ou 3 sérums à 5 dilutions seulement.

REACTION D'AGGLUTINATION DES PARTICULES DE LATEX

BOZDECH et JIRA, 1961.

— La suspension de latex utilisée est environ de 11 %, et la taille des particules de $0,81 \mu$.

Cette suspension est épurée par centrifugation et filtration, puis étendue avec une solution tamponnée de glycocolle (pH 8,2).

La concentration des particules est vérifiée par colorimétrie : habituellement 0,15 ml de la substance donnée pour 100 ml de substance tampon. La solution ainsi préparée montre une fluidité laiteuse. Elle doit être utilisée rapidement.

— La sensibilisation des particules de latex se fait avec un antigène toxoplasmique préparé à partir de l'exsudat péritonéal de souris.

La suspension de latex fut mélangée aux antigènes selon des dilutions différentes, pendant des temps, et à des températures variables.

La sensibilisation optima est obtenue pour 37°C et 2 heures.

— Les sérums sont inactivés à 56°C pendant 30 minutes et ensuite on ajoute en progression géométrique la solution de glyocolle tamponnée, dans de petites tubes à agglutination. On ajoute toujours la même quantité de latex et on mélange. La réaction est laissée se produire à 4° C pendant une nuit. Puis on centrifuge à 2.000 tours par minute pendant dix minutes.

— La lecture du test se fait macroscopiquement ou avec une loupe binoculaire sur un fond noir.

La réaction est positive quand les agglomérats de latex sont gros, peu mobilisables et que la solution au-dessus est claire.

— Pour de faibles dilutions, l'agglutination spontanée se produit très souvent car le phénomène prozone et l'anticomplémentarité du sérum peuvent simuler de faux résultats, aussi bien positifs que négatifs.

Avec les deux tests, 67,5 % des sérums sont négatifs ;

4 % des sérums sont positifs.

27,3 % sont positifs avec la fixation du complément et négatifs avec le test au latex ;

1,2 % sont positifs avec le latex et négatifs avec la fixation du complément.

— La réaction d'agglutination des particules de latex est bien moins sensible que la déviation du complément.

REACTION D'AGGLUTINATION DE PARTICULES DE POLYMETHYL META-ACRYLIQUE

SIIM, 1960-1961.

— L'antigène utilisé est un exsudat péritonéal de souris infestées cinq jours auparavant par *Toxoplasma gondii*.

On ajoute de l'eau distillée au sédiment lavée à raison de 10 pour 1 en poids, et l'extraction est réalisée par refroidissements à 70° C et degels à - 20° C repetés, puis broyage par le sable.

— L'extrait brut est centrifugé à 14.000 tours par minute pendant une heure, c'est le liquide surnageant qui est utilisé pour sensibiliser les particules.

— La suspension des particules acryliques mesurant 0,5 μ est additionnée, jusqu'à obtenir une dilution de 1/100^e, à l'extrait salin de toxoplasme. La concentration finale des particules étant 0,3 ‰, la suspension est agitée une heure à la température du laboratoire et mise au réfrigérateur pendant quarante-huit heures.

Après centrifugation 30 minutes à 2.000 tours/minute, le sédiment est resuspendu dans le volume initial salin, et on ajoute du Merthiolate à 0,01 %.

L'antigène est stocké à + 4°C.

— On prépare des dilutions de sérums inactivés par la chaleur en milieu salin contenant 2 ‰ de sérum humain négatif inactivé de pH 7-7,2.

— On dépose une goutte de chaque dilution sur une plaque et l'antigène y est ajouté dans le rapport 1/20.

— Après agitation de cinq minutes à la température du laboratoire, les lames sont placées une nuit au réfrigérateur. Au cas où aucune modification visible ne surviendrait après l'incubation initiale à la température du laboratoire, une floculation déterminée peut être obtenue après conservation au froid une nuit.

La réaction est lue à la loupe.

LES RÉSULTATS.

Les tests deviennent positifs au bout de 24 jours après l'inoculation du cobaye, 11 jours après la positivité du test de lyse, mais au microscope on peut déceler une floculation au bout d'une semaine.

— Sur 40 sérums humains examinés, positifs au dye-test entre $1/250^e$ et $1/6.250^e$, tous flocluaient à des dilutions de $1/40^e$ et $1/240^e$, sauf un.

— Des 18 sérums négatifs au dye-test, 13 étaient négatifs au test de floculation et 5 avaient les titres de $1/10^e$ à $1/40^e$.

Il existe vraisemblablement plusieurs anticorps.

Des travaux ultérieurs sont en cours pour confirmer la sensibilité et la spécificité du test.

AGGLUTINATION DES PARTICULES DE BENTONITE SENSIBILISEES COMME METHODE SEROLOGIQUE DE DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE

C'est à BOZICEVITCH (1951) que l'on doit les premiers travaux sur les particules de Bentonite comme support d'antigène.

Le Professeur COUDERT avait vu la possibilité de révéler par cette méthode la présence d'anticorps aux taux très faibles où ils existent dans les maladies parasitaires (Thèse de GIBERT, Lyon 1960). Le Docteur DESPEIGNES a étudié, tout particulièrement, sur des séries importantes de sérums, la réaction d'agglutination des particules de Bentonite pour le diagnostic de la toxoplasmose. Ce sont ses travaux que nous rapportons dans cette thèse.

TECHNIQUE

Définition.

Les Bentonites sont des argiles constituées par des silicates hydratés complexes à base d'alumine dans lesquels prédomine le constituant montmorillonite.

Mise en suspension dans l'eau, la Bentonite en poudre donne une suspension colloïdale. Les micelles ont un pouvoir d'adsorption important pour les substances en solution dans le milieu. C'est ainsi que l'antigène toxoplasmique soluble se fixe à la surface des particules. Mais de façon non spécifique, la

bentonite fixe également les protéines sériques qui seront responsables d'auto-agglutination ou contrarieront les agglutinations spécifiques. Aussi utilise-t-on la suspension de Bentonite à l'état colloïdal lors de la fixation de l'antigène, et, au contraire au moment de la réaction, supprime-t-on cet état par centrifugation suivie de resuspension dans l'eau distillée.

La Bentonite utilisée est commercialisée sous le nom de Bentonil C par la Société Française des Glycérines.

Cette Bentonite n'est pas homogène et comprend toute une gamme de particules qui peuvent réaliser plus ou moins facilement l'état colloïdal ; du fait de leur pouvoir d'adsorption plus grand, nous choisissons les particules les plus colloïdales que nous sélectionnons par centrifugation.

Préparation de la suspension.

200 mg de la poudre de Bentonite sont jetés dans 100 ml d'eau distillée. Un mixer, pendant une ou deux minutes, agite le mélange jusqu'à ce que l'on obtienne une suspension homogène. Celle-ci est alors centrifugée 5 minutes à 1.800 tours/minute et c'est le surnageant débarrassé des impuretés et des particules non colloïdales que l'on recueille.

La suspension mesurée par opacimétrie contient environ 0,3 mg/ml de Bentonite dont les particules ont un diamètre moyen de 0,5 micron.

Avant l'emploi, la suspension est agitée, de nouveau, à la main.

Antigène toxoplasmique.

— PRÉPARATION - On inocule des souris par voie intrapéritonéale avec une souche virulente de toxoplasme : Souche Rh de SABIN. Au bout de trois jours on recueille l'ascite. On laisse déposer pendant 15 minutes les plus gros amas cellulaires coagulés et le surnageant est centrifugé 10 minutes à 4.000 tours/minute. Le culot obtenu est resuspendu dans environ 50 fois son poids d'eau distillée. On ajoute de l'Hydromerfène

(borate de phényl mercure) à la concentration de 1/10.000. La suspension est ensuite craquée au mixer et conservée à la glacière à + 4° C.

— VALEUR - Au moment de l'emploi, la suspension antigénique est salée à 9,9 % de ClNa et centrifugée pendant 10 minutes à 4.000 tours/minute. Le surnageant limpide formé des fractions solubles est testé en présence d'un sérum positif par fixation du complément. Les titres obtenus sont inférieurs à ceux qu'on obtient avec l'antigène brut non centrifugé, d'ailleurs légèrement anticomplémentaire. Ils correspondent en moyenne au 1/5^e de ceux-ci.

Mais notre réaction exige l'emploi d'un antigène absolument limpide.

Matériel.

Il doit être lavé soigneusement et obligatoirement rincé à l'eau distillée. Il comprend :

Deux pipettes Pasteur donnant le même nombre de gouttes par ml pour l'antigène et pour les sérums, soit une goutte = 1/50 ml.

Un agitateur de verre à bouts arrondis.

Cinq plaques de verre transparent de 18/13 cm.

Des tubes à hémolyse ordinaires.

Un agitateur mécanique : nous employons un mixer de la marque « Turmix » dont les couteaux en acier inoxydable tournent à la vitesse de 5.000 tours/minute.

L'eau distillée est préparée à partir d'un appareil à permuter sur résines ; une désionisation absolue n'est pas nécessaire, un pH voisin de 6 ne nuit pas à la stabilité de la suspension.

De plus, il faut apporter un soin particulier au nettoyage des plaques de verre : nous employons volontiers des produits à base de « Teepol », mais surtout nous rinçons longuement les plaques à l'eau du robinet puis à l'eau distillée et les faisons sécher à l'abri des poussières ; des traces de corps tensioactifs

ou d'électrolytes risquant d'entraîner de fausses agglutinations des particules de Bentonite.

Sensibilisation de la Bentonite.

Après de nombreux essais, en faisant varier les proportions respectives d'antigène et de Bentonite, avec ou sans centrifugation, nous avons retenu la méthode suivante :

La solution antigénique est ajoutée à parties égales à la suspension de Bentonite et l'ensemble est centrifugé 5 minutes à 4.000 tours/minute, le culot est resuspendu dans le volume initial d'eau distillée.

Il semble que l'adsorption de l'antigène par la Bentonite soit immédiate, mais les résultats obtenus sont meilleurs si le mélange a séjourné 24 heures à 4° C.

Sérums.

Ils sont dilués à $1/10^2$ en *eau distillée* et chauffés au bain-marie 3 minutes à 60° C. Le chauffage a pour but de détruire les agglutinines naturelles qui donnent des agglutinations non spécifiques et masquent les anticorps immuns.

Les sérums sont expertisés par séries de 20 à 40 à la fois. Nous pratiquons pour chacun d'eux une dilution de base de $1/10^2$ et ne poursuivons les dilutions ultérieures en eau distillée que pour les sérums ayant donné des agglutinations ou ceux qui, très positifs au test de Lyse, sont susceptibles d'avoir donné un phénomène de zone.

Réaction.

TECHNIQUE. — Sur une plaque de verre rigoureusement propre, nous déposons une goutte de chaque serum dilué, la plaque permettant de répartir 30 sérums, et nous ajoutons à chacun une goutte de Bentonite sensibilisée. Nous étalons légèrement avec un agitateur de verre et laissons reposer la plaque 15 minutes à la température du laboratoire.

La lecture de la réaction se fait à l'aide d'une loupe et d'un éclairage latéral sur fond noir. En animant la plaque d'un léger mouvement circulaire, on révèle les agglutinats en même temps que le liquide s'éclaircit, tandis que la simple sédimentation de la Bentonite laisse persister un liquide opalescent.

Pour chaque plaque, nous ajoutons systématiquement aux mêmes dilutions un sérum positif et un sérum négatif connus. Les sérums qui donnent des agglutinations sont ensuite dilués en eau distillée jusqu'à 1/640^e. La lecture et la réaction se pratiquent toujours de la même manière.

Causes d'erreurs.

Des agglutinations non spécifiques peuvent se produire sur des plaques de verre comportant à leur surface des traces de corps tensioactifs (Teepol) ou d'électrolytes (Calcium), mais ce phénomène ne se produit pas après un rinçage suffisant à l'eau distillée.

Les agglutinations non spécifiques sont liées en fait à l'état des sérums ou à des modifications de l'état physique de la Bentonite. En effet, nous avons constaté que les sérums gras, contaminés, ou hémolysés, donnaient assez souvent des agglutinations bâtarde dans toutes les dilutions et étaient de ce fait inutilisables ; souvent d'ailleurs, ces sérums étaient anticomplémentaires à la réaction de fixation du complément.

Mais ce sont les modifications de l'état physique de la Bentonite qui sont à l'origine des principales causes d'agglutinations non spécifiques. Au départ, son état colloïdal permet une adsorption rapide en surface de l'antigène soluble, mais cet état doit être détruit ensuite par une centrifugation suffisante pour que soit supprimée, au moment de la réaction, la fixation des protéines du sérum qui est à l'origine d'autoagglutinations des particules de Bentonite. Il est parfois nécessaire d'utiliser plusieurs centrifugations successives, suivies de resuspension en eau distillée pour supprimer cet état colloïdal parasite.

A la suite de l'étude sérologique que nous rapportons plus loin, nous avons été amené à abandonner le test d'agglutination des particules de Bentonite.

Nos recherches se sont alors orientées sur l'étude d'un test par agglutination de particules de kaolin, après avoir essayé toutes sortes de particules donnant des suspensions colloïdales ou non et possédant un pouvoir adsorbant suffisant pour l'antigène toxoplasmique.

Les techniques de ces deux tests étant très voisines, nous suivrons des plans similaires, mais ne répèterons pas les procédés identiques :

- le matériel et les précautions à prendre pour l'utiliser ;
 - le moyen d'obtenir et de lire les réactions d'agglutination.
-

AGGLUTINATION DES PARTICULES DE KAOLIN SENSIBILISEES COMME METHODE SEROLOGIQUE DE DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE

TECHNIQUE

Définition.

Le Kaolin est chimiquement parlant voisin de la Bentonite car il s'agit d'un silicate hydraté d'aluminium, capable de donner des particules suffisamment fines pour former une suspension non colloïdale. C'est dire que cette suspension sera peu sensible à la concentration en électrolytes, mais que le pouvoir adsorbant des particules sera inférieur à celui de la Bentonite, et nécessitera une sensibilisation avec l'antigène toxoplasmique beaucoup plus longue.

Préparation de la suspension.

Nous avons employé plusieurs échantillons de Kaolin sélectionné, et c'est la poudre de Kaolin officinal qui nous donne toute satisfaction.

Un gramme de Kaolin en poudre est jeté dans 100 cm³ d'eau distillée et brassé énergiquement dans un mixer pendant 1 à 2 minutes.

La suspension est laissée déposer 24 heures dans un Becher de 250 cm³. Le surnageant est recueilli et l'on mesure sa concentration en Kaolin par opacimétrie par rapport à une suspension

étalon. On ramène cette concentration à 1 mg par cm³ de Kaolin.

Au moment de l'emploi, cette suspension est agitée énergiquement à la main.

Elle se conserve indéfiniment.

L'antigène toxoplasmique.

La solution antigénique est préparée à partir d'ascite de souris inoculées avec des toxoplasmes virulents souche Rh de SABIN.

Nous éliminons au maximum les cellules péritonéales de souris en les laissant sédimenter 15 à 20 minutes et en ne recueillant que le surnageant riche en toxoplasmes.

Nous n'utilisons que les ascites très riches en toxoplasmes pour obtenir un antigène aussi spécifique que possible. On centrifuge pendant 10 minutes à 4.000 tours/minute. Le culot de toxoplasmes est resuspendu dans environ 50 fois son poids de sérum physiologique, et le tout est craqué au mixer pendant quelques minutes.

La solution antigénique se conserve à + 4° C à l'aide d'Azoture de sodium au 1/1000^e pendant plusieurs mois.

La valeur antigénique est testée par fixation du complément avec un sérum test positif.

Au moment de l'emploi, la suspension est centrifugée 5 minutes à 4.000 tours/minute et seul le surnageant est employé dans la réaction.

Le matériel.

Il est le même que celui utilisé dans le test à la Bentonite, et si les précautions de lavage sont moins strictes que pour lui, elles n'en sont pas moins importantes.

Sensibilisation des particules.

Cette sensibilisation est optima dans un récepteur en verre, à fond plat, bouché, dans lequel la hauteur du liquide ne dépasse pas quelques millimètres.

On ajoute à 1 cm³ de solution antigénique limpide 1 cm³ de suspension de Kaolin et l'on homogénéise à la pipette.

La sensibilisation du Kaolin demande 24 heures, au bout desquelles les particules ont sédimenté. On élimine alors le surnageant qui contient l'excès d'antigène non fixé et on le remplace par la même quantité de sérum physiologique. Les particules sont remises en suspension par agitation ménagée pour ne pas risquer d'éluer une partie de l'antigène fixé, ce qui diminuerait la sensibilité de la réaction.

Sérums.

Les sérums peuvent être dilués en eau distillée ou en sérum physiologique contenant 5 % de Substosan ou 2 % de sérum négatif inactivé qui éliminent les agglutinations d'origine purement physique et accélèrent les agglutinations spécifiques.

Nous avons utilisé comme dilution de départ celles employées pour le test de Lyse, c'est-à-dire dans un premier temps le 1/20^e, puis le 1/50^e dans un deuxième temps (à partir du 3-6-1964).

Les sérums sont chauffés 3 minutes à 60° pour détruire les facteurs responsables d'agglutinations non spécifiques.

Réaction.

Elle est absolument superposable dans sa technique et dans son interprétation à celle utilisée avec la Bentonite.

Causes d'erreur.

L'agglutination dans tous les sérums traduit des particules déjà en partie agglutinées lors de leur sensibilisation : il est nécessaire avant la réaction, de bien homogénéiser la suspension de Kaolin et de vérifier qu'elle ne présente pas d'amas non dissociés.

Une agglutination lente et laborieuse au Kaolin avec le témoin positif traduit la présence d'antigènes libres élués des particules par une agitation trop énergique.

Il est alors nécessaire de laisser reposer la suspension 30 minutes pour obtenir une réaction correcte.

Ces deux principales causes d'erreur sont toujours faciles à déceler grâce à l'emploi dans la réaction de sérums témoins :

- l'un négatif,
 - l'autre positif à plusieurs dilutions.
-

AGGLUTINATION DES PARTICULES DE BENTONITE SENSIBILISEES COMME METHODE SEROLOGIQUE DE DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE

ENQUETE SEROLOGIQUE

Cette enquête fait suite à celle rapportée dans un article à paraître dans la *Presse Médicale*, publié par J.-P. GARIN et J. DESPEIGNES.

Toxoplasmose animale expérimentale.

Méthode : dans un premier temps, nous avons inoculé par voie intrapéritonéale 30 cobayes avec de l'ascite de souris infestées par des toxoplasmes trois jours auparavant. Nous avons numéré la richesse en toxoplasmes de l'inoculum ; notre souche, souche Rh de SABIN, était à ce point virulente qu'elle a entraîné la mort de 26 cobayes vers le 12^e jour après l'inoculation sans grande différence de survie entre les cobayes qui avaient reçu 10 ou 10.000 toxoplasmes. Les sérums de ces cobayes recueillis avant leur mort montraient déjà la présence d'anticorps, agglutinant, fixant le complément, et lysant. Les 4 cobayes survivants ont pu être suivis du point de vue sérologique pendant plus d'un an et être réinoculés à plusieurs reprises sans dommages avec des quantités primitivement mortelles de toxoplasmes vivants.

Dans un deuxième temps, pour limiter la mortalité de nos cobayes due à une primo-inoculation avec des toxoplasmes

vivants, nous leur avons préalablement injecté par voie intrapéritonéale 1 ml. de notre suspension antigénique. Au bout de 15 jours, quatre cobayes ainsi traités pouvaient supporter sans dommage une inoculation massive et normalement mortelle de toxoplasmes vivants.

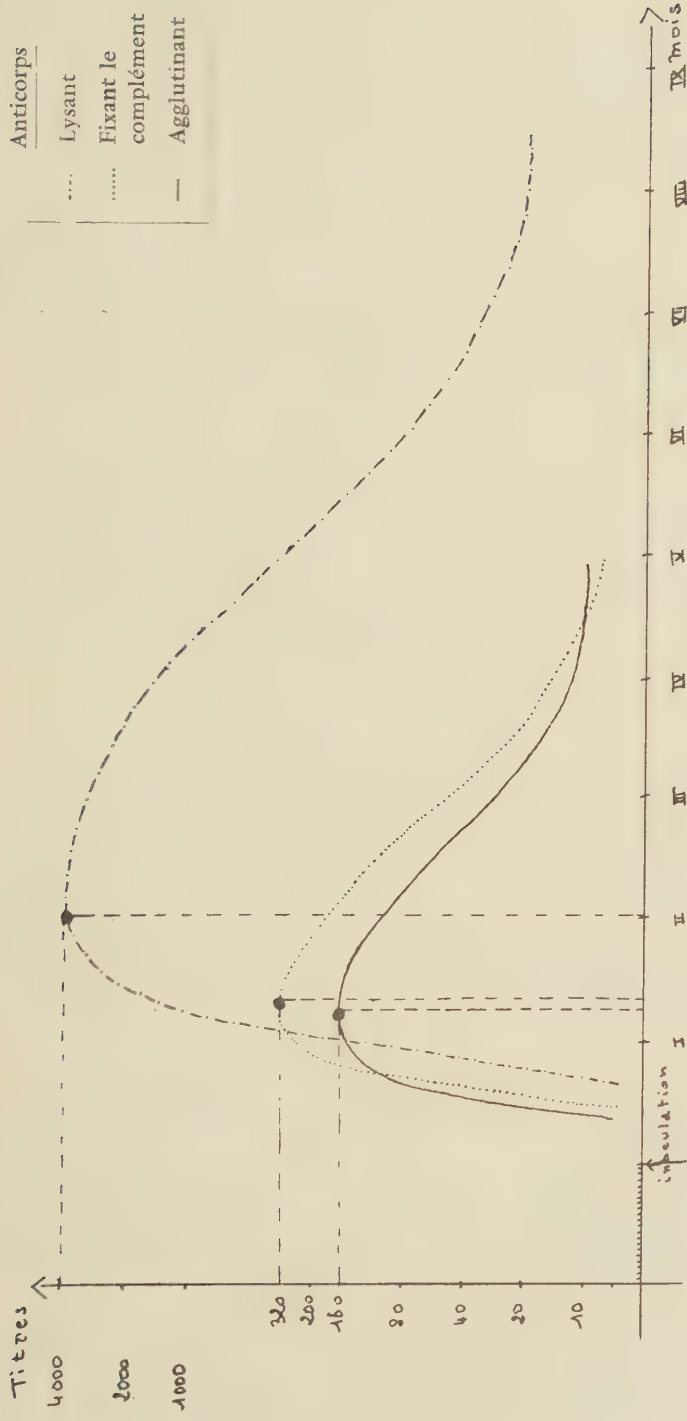
Nous avons ainsi pu suivre chez 8 cobayes le taux des anticorps sériques en prélevant chaque semaine du sang à un cobaye appartenant à chacun des lots ; quand les titres des anticorps décelés par le test de lyse, la fixation du complément et l'agglutination de la Bentonite avaient baissé notablement, au bout de trois à quatre mois, nous avons pratiqué une réinoculation massive pour stimuler la remontée des anticorps.

Résultats : nous avons dressé une courbe en fonction du taux moyen des anticorps trouvé chez nos cobayes, car il existe de grosses variations individuelles. Si les cobayes réagissent de façon assez analogue lors de la primo-inoculation, la montée des anticorps se faisant brusquement vers le dixième jour, il n'en est pas de même lors des réinoculations où tel cobaye réagira aussi fort qu'à la primo-inoculation et tel autre de manière imperceptible.

COURBES

Sur ces courbes, nous voyons que les anticorps agglutinants et fixant le complément apparaissent vers le dixième jour après l'inoculation ; leur taux maximum se situe vers la cinquième semaine et leur taux minimum décelable, vers le cinquième mois.

Les courbes relatives aux anticorps agglutinant et fixant le complément assez voisines suggèrent que nous révélons avec ces deux méthodes différentes les mêmes anticorps, d'autant plus que nous employons le même antigène pour les deux réactions : la portion soluble de notre suspension toxoplasmique. Les anticorps lysants par contre, s'ils apparaissent aussi précocement vers le quinzième jour, présentent un taux maximum étalé entre le deuxième et le troisième mois et une chute lente et progressive, en conservant un titre significatif, pendant sept à huit mois.



Evolution des anticorps
dans la toxoplasmose expérimentale du cobaye

Au cours de réinoculations massives, deux cobayes sur huit seulement présentèrent une réascension des anticorps comparable à la primo-inoculation et qui portait surtout sur les anticorps lysants, alors que les anticorps agglutinants et fixant le complément demeuraient à des taux très bas. Les six autres cobayes présentaient une inertie notable à fabriquer des anticorps, bien qu'ils présentassent une immunité réelle vis-à-vis des doses massives de toxoplasmes qui leur étaient inoculées. Comme seul témoin sérologique de leur infestation, ils présentent un test de lyse positif à 1/20^e depuis plus d'un an tandis que les réactions de fixation du complément et d'agglutination restent négatives.

De cette étude, il semble ressortir que les anticorps agglutinants et fixant le complément d'une part et les anticorps lysants d'autre part sont différents. Mais en fait, en réalisant la fixation du complément, non plus avec l'antigène soluble seul, mais avec la suspension toxoplasmique totale, bien que celle-ci soit légèrement anticomplémentaire, nous avons toujours obtenu des taux de positivité très supérieurs et voisins de ceux obtenus au test de lyse.

Aussi les taux d'anticorps trouvés aux différentes réactions sont-ils liés à l'emploi d'antigènes différents, antigène soluble ou antigène figuré, sans que nous puissions affirmer si ces antigènes diffèrent seulement par leur concentration, ou s'ils correspondent à des fractions toxoplasmiques différentes : fraction protoplasmique pour l'antigène soluble, fraction capsulaire pour l'antigène insoluble ; dans ces conditions, ils révéleraient des anticorps dont la signification serait différente.

ENQUETE SEROLOGIQUE HUMAINE

L'enquête précédente rapportée par J.-P. GARIN et J. DESPELGNES, portait aussi sur :

— 565 sérums testés avec la Bentonite sensibilisée à raison de 1/10^e de solution antigénique ajoutée à la suspension de Bentonite.

— 638 sérums testés avec la Bentonite sensibilisée selon la méthode que nous avons décrite.

Pour notre compte, l'étude porte sur les examens pratiqués au laboratoire de parasitologie pendant quinze mois, du 1^{er} octobre 1962 au 31 décembre 1963.

Les 1.393 sérums ont été inventoriés par le test de lyse, la fixation du complément, et l'agglutination des particules de Bentonite.

Nous avons essayé de tester la valeur de cette dernière réaction par rapport aux deux autres examens éprouvés.

A - Comparaison des résultats obtenus avec le test de lyse, la fixation du complément et l'agglutination des particules de Bentonite.

L'expérience nous a montré que, avec les techniques utilisées, l'ajustement de la fixation du complément et de la réaction à la Bentonite par rapport au test de lyse était à peu près réalisé en utilisant comme dilution de départ :

- 1/20^e pour le test de lyse,
- 1/5^e pour la fixation du complément,
- 1/10^e pour la Bentonite.

Dans ces conditions, nos résultats sont les suivants :

Test de lyse Titre 1/20 ^e		Bentonite Titre 1/10 ^e		Fixation du complément Titre 1/5 ^e	
Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
273	1120	125	1268	80	1313

A la lecture de ce tableau, nous voyons que les résultats obtenus avec le test à la Bentonite se rapprochent plus de ceux obtenus avec la fixation du complément que de ceux obtenus avec le test de lyse.

Cependant, on ne trouve que 47 sérums positifs, à la fois avec la fixation du complément et le test à la Bentonite, soit 3 % seulement de la totalité des sérums envisagés ; alors qu'il

y en a 91, soit 6 %, qui soient positifs, à la fois avec le test de lyse et le test à la Bentonite. Cette dernière comparaison sera donc aussi intéressante.

C'est pourquoi nous envisagerons les similitudes qui existent entre le test à la Bentonite et successivement la fixation du complément et le test de lyse.

B - Comparaison des résultats obtenus avec la fixation du complément et l'agglutination des particules de Bentonite.

ETUDE QUALITATIVE.

a) Résultats strictement concordants.

Pour 1.284 sérums, sur les 1.393 étudiés, soit dans 92 % des cas environ, les résultats de la fixation du complément et de l'agglutination de la Bentonite sont concordants à la plus petite dilution ($1/5^e$ - $1/10^e$).

Sur ces 1.284 sérums, 47, soit 3 %, ont été trouvés positifs et 1.237, soit 89 %, négatifs, par les deux techniques.

La spécificité semble donc comparable.

b) Résultats légèrement différents.

Pour 72 des sérums envisagés, nous avons obtenu une légère différence entre les deux réactions, soit dans 5 % des cas.

— Soit que la fixation du complément ait été faiblement positive au $1/5^e$ ou au $1/10^e$, et la Bentonite négative, dans 21 des cas.

— Soit que la Bentonite ait été positive au $1/10^e$ et la fixation du complément négative dans 51 des cas.

c) Résultats nettement divergents.

Une nette différence a pu être observée, enfin, à propos de 40 sérums, soit dans 3 % des cas.

Ces sérums se répartissent en deux catégories :

— sérums négatifs à la fixation du complément et positifs à l'agglutination de la Bentonite :

Test à la Bentonite Titres	1/20°	1/40°	1/80°
Sérums ayant un titre nul à la fixation du complément	22	6	0

— sérums positifs à la fixation du complément et négatifs à l'agglutination de la Bentonite :

Fixation du complément Titres	1/20°	1/40°	1/80°	1/160°
Sérums ayant un titre nul au test à la Bentonite	6	5	1	0

C - Comparaison des résultats obtenus avec le test de lyse et l'agglutination des particules de Bentonite.

ETUDE QUALITATIVE.

a) Résultats strictement concordants.

Pour 1.187 sérums sur les 1.393 étudiés, soit dans 85 % des cas environ, les résultats du test de lyse et de l'agglutination de la Bentonite sont concordants à la plus petite dilution (1/20° - 1/10°).

Sur ces 1.187 sérums, 91, soit 6 % ont été trouvés positifs et 1.096, soit 79 %, négatifs par les deux techniques.

b) Résultats légèrement différents.

Pour 182 des sérums envisagés, nous avons obtenu une légère différence entre les deux réactions, soit dans 13 % des cas.

— 164 fois le test de lyse était faiblement positif au 1/20° et le test à la Bentonite négatif.

— 18 fois le test à la Bentonite était faiblement positif au 1/10° et le test de lyse négatif.

c) *Résultats nettement divergents.*

Une nette différence a pu être observée, enfin, à propos de 34 sérums, soit dans 2,5 % des cas.

Ces sérums se répartissent en deux catégories :

— sérums négatifs au test de lyse et positifs à l'agglutination de la Bentonite :

Test à la Bentonite Titres	1/20°	1/40°	1/80°
Sérums ayant un titre nul au test de lyse	16	0	0

— sérums positifs au test de lyse et négatifs à l'agglutination de la Bentonite :

Test de lyse Titres	1/200°	1/1000°
Sérums ayant un titre nul au test à la Bentonite	16	2

Cette étude confirme notre première impression, puisqu'il apparaît que la spécificité du test à la Bentonite s'apparente surtout à la fixation du complément (92 % des résultats sont strictement concordants et 3 % seulement présentent des divergences notoires).

Cette constatation rejoint l'observation que nous avons faite lors de l'étude sérologique expérimentale.

D - Comparaison des résultats obtenus avec le test de lyse, la fixation du complément et l'agglutination des particules de Bentonite.

ETUDE QUANTITATIVE.

Sur les 47 sérums, d'une part, trouvés positifs avec la fixation du complément et le test à la Bentonite, et les 91 sérums

d'autre part, trouvés positifs avec le test de lyse et le test à la Bentonite, il s'en est avéré un assez grand nombre qui ont présenté des titres différents selon la réaction.

Nous avons rassemblé ces résultats dans les deux tableaux ci-dessous.

Réaction d'agglutination de la Bentonite	Fixation du complément								
	Titres	0	1/5°	1/10°	1/20°	1/40°	1/80°	1/160°	1/320°
	0	1237	8	13	6	5	1		
	1/10°	51	7	4	3	2	2		
	1/20°	22	3	3	6	1	2		1
	1/40°	6	1	1	1	4	2	1	1
	1/80°						1	1	1

Réaction d'agglutination de la Bentonite	Test de lyse					
	Titres	0	1/20 ^e	1/200 ^e	1/1000 ^e	1/2000 ^e
	0	1096	164	16	2	
	1/10 ^e	18	38	5		
	1/20 ^e	16	14	10	1	
	1/40 ^e		2	7	10	
	1/80 ^e				3	1

A la lecture de ces tableaux, nous constatons que si nous comparons le test à la Bentonite avec la fixation du complément, les résultats pour des titres très élevés ($1/320^e$ - $1/160^e$) sont relativement parallèles, mais que les résultats positifs à des titres moindres, mais encore significatifs ($1/40^e$ - $1/80^e$) sont beaucoup trop dispersés pour donner lieu à une interprétation valable.

La comparaison du test à la Bentonite avec le test de lyse portant sur un plus grand nombre de cas est plus intéressante :

— *Pour des titres au test de lyse très significatifs* ($1/1.000^e$) la réaction à la Bentonite est positive à des titres variant de $1/80^e$ à $1/20^e$.

La correspondance se fait le plus souvent avec le taux de $1/40^e$.

Sur ces 17 sérums, la réaction à la Bentonite était cependant deux fois négative.

— *Pour des titres au test de lyse moins positifs* ($1/200^e$) la réaction à la Bentonite est positive à des titres variant de $1/40^e$ à $1/10^e$.

La correspondance se fait le plus souvent avec le taux de $1/20^e$.

Sur ces 38 sérums, la réaction à la Bentonite était cependant seize fois négative.

— *Pour des titres faibles au test de lyse* ($1/20^e$ - $1/50^e$) la réaction à la Bentonite était positive à des taux variant du $1/40^e$ au $1/10^e$. (L'un des titres $1/40^e$, élevé avec la réaction à la Bentonite, présentait le même titre avec la fixation du complément).

La correspondance se fait le plus souvent avec le taux de $1/10^e$.

Sur ces 218 sérums, la réaction à la Bentonite était 164 fois négative.

CONCLUSIONS.

La marge de sensibilité du test par agglutination des particules de Bentonite est comprise entre $1/80^e$ et $1/5^e$.

La correspondance entre les titres des trois réactions est donc très variable. A des titres élevés obtenus au test de lyse ou à la fixation du complément ne correspond pas forcément un titre parallèle à la réaction d'agglutination des particules de Bentonite.

Dans 3 % des cas, il existe des résultats très discordants.

Du fait de leur état colloïdal, les particules de Bentonite même revêtues d'antigènes sont très influencées par les électrolytes et l'équilibre colloïdal des sérums. De ce fait, on obtient trop fréquemment des agglutinations positives.

D'autre part, la réaction se montre très peu sensible et les discordances trop importantes dans les titres positifs par rapport au test de lyse et à la fixation du complément, ne permettent pas d'envisager son utilisation de façon courante.

C'est pour ces raisons que nous avons abandonné la réaction d'agglutination des particules de Bentonite sensibilisées dans le diagnostic de la toxoplasmose, pour étudier la réaction d'agglutination des particules de Kaolin.

AGGLUTINATION DES PARTICULES DE KAOLIN SENSIBILISEES COMME METHODE SEROLOGIQUE DE DIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE

ENQUETE SEROLOGIQUE

Nous n'avons pas fait pour l'agglutination des particules de Kaolin l'enquête sérologique sur la toxoplasmose animale expérimentale que nous avons menée pour l'agglutination des particules de Bentonite.

Après une période de mise au point du test au Kaolin, nous avons procédé à l'enquête sérologique humaine. Nous avons suivi le même plan que pour le test à la Bentonite.

Enquête sérologique humaine.

L'étude porte sur les examens pratiqués au laboratoire de parasitologie pendant cinq mois, du 5 mars 1964 au 5 août 1964.

Les 698 sérums ont été inventoriés par le test de lyse, la fixation du complément et l'agglutination des particules de Kaolin.

Nous avons essayé de tester la valeur de cette dernière réaction par rapport aux deux autres examens.

A - Comparaison des résultats obtenus avec le test de lyse, la fixation du complément et l'agglutination des particules de Kaolin.

L'expérience nous a montré que, avec la technique et les

antigènes utilisés, l'ajustement de la fixation du complément et de la réaction de l'agglutination au Kaolin par rapport au test de lyse était à peu près réalisé en utilisant comme dilution de départ :

- 1/20^e puis 1/50^e à partir du 3-6-1964 pour le test de lyse.
- 1/10^e pour la fixation du complément.
- 1/50^e pour le Kaolin.

Dans ces conditions, nous obtenons les résultats suivants :

Test de lyse Titre 1/20 ^e ou 1/50 ^e		Kaolin Titre 1/50 ^e		Fixation du complément Titre 1/10 ^e	
Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
144	554	132	566	74	624

A la lecture de ce tableau, nous voyons que les résultats obtenus avec le test au Kaolin se rapprochent plus de ceux obtenus avec le test de lyse que de ceux obtenus avec la fixation du complément.

Nous envisagerons les similitudes qui existent entre le test au Kaolin et successivement, la fixation du complément et le test de lyse.

B - Comparaison des résultats obtenus avec la fixation du complément et l'agglutination des particules de Kaolin.

ETUDE QUALITATIVE.

a) Résultats strictement concordants.

Pour 632 sérums, sur les 698 étudiés, soit dans 90 % des cas, les résultats de la fixation du complément et de l'agglutination du Kaolin sont concordants à la plus petite dilution (1/10^e - 1/50^e).

Sur ces 632 sérums, 70, soit 10 %, ont été trouvés positifs et 562, soit 80 %, négatifs, par les deux techniques. La spécificité semble donc comparable.

b) *Résultats légèrement différents.*

Pour 59 des sérums envisagés, soit dans 8,4 % des cas, nous avons obtenu une légère différence entre les deux réactions :

— soit que la fixation du complément ait été faiblement positive ($1/10^e$) et le test au Kaolin négatif, dans trois cas ;

— soit que la réaction au Kaolin ait été faiblement positive ($1/50^e$) et la fixation du complément négative, dans 56 cas.

c) *Résultats nettement divergents.*

Une plus nette différence a pu être observée, enfin, à propos de 7 sérums, soit dans 1 % des cas.

Ces sérums se répartissent en deux catégories :

— 6 sérums négatifs à la fixation du complément et positifs au test de Kaolin :

Tests au Kaolin Titres	$1/100^e$	$1/200^e$
Sérums ayant un titre nul à la fixation au complément	3	3

— Un sérum positif à la fixation du complément au titre de $1/20^e$ et négatif au test au Kaolin.

C - Comparaison des résultats obtenus avec le test de lyse et l'agglutination des particules de Kaolin.

ETUDE QUALITATIVE.

a) *Résultats strictement concordants.*

Pour 655 sérums, sur les 698 étudiés, soit dans 93 % des cas, les résultats du test de lyse et de l'agglutination du Kaolin sont concordants à la plus petite dilution ($1/50^e$ - $1/50^e$).

Sur ces 655 sérums, 116 ont été trouvés positifs, soit 16 %, et 539 négatifs, soit 77 %, avec les deux réactions.

b) *Résultats légèrement différents.*

Pour 43 des sérums envisagés, nous avons obtenu une

légère différence entre les deux réactions, soit dans 6 % des cas.

— Le test de lyse a été 28 fois faiblement positif (1/20^e ou 1/50^e) et le test au Kaolin négatif.

— Le test au Kaolin a été 15 fois faiblement positif (1/50^e) et le test de lyse négatif.

Ceci s'explique probablement, tout au moins pour les 28 sérums positifs au seul test de lyse, par une sensibilité plus grande de celui-ci.

Quant aux 16 sérums positifs eux aussi à des titres faibles au test au Kaolin, et qui le sont par excès, ils peuvent s'expliquer, en partie, par des sérologies qui seraient peut-être positives à des titres inférieurs au 1/50^e.

c) Résultats nettement divergents.

Il n'existe pas là des résultats vraiment divergents. Une seule sérologie est trouvée positive au test au Kaolin avec un titre au 1/100^e alors qu'elle est négative avec le test de lyse.

De ces deux études comparatives, il ressort donc que le test au Kaolin s'apparente davantage au test de lyse qu'à la fixation du complément ; aux faibles dilutions, il serait même un peu plus sensible que celui-ci.

Une enquête sérologique sur la toxoplasmose animale expérimentale serait nécessaire pour confirmer cette impression.

D - Comparaison des résultats obtenus avec le test de lyse, la fixation du complément et l'agglutination des particules de Kaolin.

ETUDE QUANTITATIVE.

Sur les 116 sérums trouvés positifs avec le test de lyse et le test au Kaolin, d'une part, et les 70, d'autre part, trouvés positifs avec la fixation du complément et le test au Kaolin, il s'en est avéré un assez grand nombre qui ont présenté des titres différents suivant la réaction.

Nous avons rassemblé ces résultats dans les deux tableaux ci-contre.

Réaction d'agglutination du Kaolin	Fixation du complément							
	Titres	0	1/10 ^e	1/20 ^e	1/40 ^e	1/80 ^e	1/160 ^e	1/320 ^e
	0	562	3	1				
	1/50 ^e	56	18	7	1	1		
	1/100 ^e	3	3	3	2	2		
	1/200 ^e	3	4	2	2	3	3	2
	1/320 ^e		1	1			2	3
	1/640 ^e					1		3
	1/800 ^e						2	
	1/1000 ^e							1

Réaction d'agglutination du Kaolin	Test de lyse					
	Titres	0	1/20 ou 1/50 ^e	1/200 ^e	1/1000 ^e	1/2000 ^e
	0	539	28			
	1/50 ^e	15	72	1		
	1/100 ^e	1	6	4		
	1/200 ^e		1	15	2	
	1/320 ^e			5	3	
	1/640 ^e			1	3	
	1/800 ^e				1	1
	1/1000 ^e				1	

A partir de ces tableaux, nous détaillerons uniquement les similitudes qui existent entre le test de lyse et l'agglutination des particules de Kaolin puisque ces deux réactions sont le plus souvent concordantes.

— *Pour des titres au test de lyse très significatifs ($1/1.000^{\circ}$)* le test au Kaolin est toujours positif à des titres variant de $1/1.000^{\circ}$ à $1/200^{\circ}$.

La correspondance se fait le plus souvent avec les taux de $1/640^{\circ}$ et $1/320^{\circ}$.

— *Pour des titres au test de lyse moins positifs ($1/200^{\circ}$)*, la réaction au Kaolin est positive à des titres variant de $1/640^{\circ}$ à $1/50^{\circ}$.

La correspondance se fait le plus souvent avec le taux de $1/200^{\circ}$ (pour un des titres ($1/640^{\circ}$) au teste au Kaolin, la fixation du complément donnait aussi un titre significatif de $1/80^{\circ}$).

— *Pour des titres faibles au test de lyse ($1/20^{\circ}$ ou $1/50^{\circ}$)*, la réaction au Kaolin est positive à des taux variant de $1/200^{\circ}$ à $1/20^{\circ}$.

La correspondance se fait le plus souvent avec le taux de $1/20^{\circ}$.

Le titre élevé ($1/200^{\circ}$) au test au Kaolin, correspond encore à un titre significatif de $1/160^{\circ}$ à la fixation du complément.

Avec les particules de Kaolin, nous n'avons pas obtenu d'agglutinations non spécifiques avec les sérums hémolysés, ictériques, gras ou contaminés, contrairement à ce qui s'était passé pour le test par agglutination des particules de Bentonite.

La correspondance entre les titres des deux réactions est donc très satisfaisante, les résultats différents n'affectant que 6 % des sérums examinés. Encore ces discordances ne sont-elles pas graves, car elles ne concernent que des taux faibles ($1/20^{\circ}$ ou $1/50^{\circ}$).

CONCLUSIONS.

Sensibilité.

Par rapport au test de lyse, l'agglutination du Kaolin montre en général une sensibilité moindre, qui semble due à la présence en quantité plus ou moins importante d'antigènes libres, qu'il est difficile d'éliminer totalement. Cette sensibilité est cependant supérieure à celle de la fixation du complément.

Spécificité.

Avec les sérums présentant des titres élevés au test de lyse, 1/200^e et plus, la réaction au Kaolin s'avère toujours positive et à des titres élevés assez parallèles.

Les avantages de la méthode.

La réalisation en est simple et peu coûteuse. Elle ne nécessite ni facteur accessoire, ni ascite de souris adaptée comme pour le test de lyse, ni de manipulation longue comme pour la fixation du complément.

Les inconvénients.

La sensibilisation des particules est délicate. Elle exige lors de la resuspension en sérum physiologique une agitation ni trop douce, ce qui risquerait de conserver des amas de particules non dispersées, ni trop énergique, ce qui dissocierait l'antigène de la particule, diminuant la sensibilité de la réaction.

CONFRONTATION CLINIQUE

Il nous a semblé intéressant de retrouver à quels tableaux cliniques correspondaient les sérologies positives.

Nous nous sommes surtout attaché à retrouver les observations des malades dont les sérodiagnostics à la toxoplasmose étaient hautement significatifs, ce qui nous permettra de juger de la valeur des titres obtenus avec les réactions par agglutination des particules de Bentonite et de Kaolin.

Nous avons retenu comme titres de certitude d'une toxoplasmose évolutive ou récente :

1/1.000^e pour le test de lyse,

1/40^e pour la déviation du complément.

Nous avons obtenu, ainsi, depuis octobre 1962, des sérologies fortement positives pour 56 malades.

Il ne nous a pas été possible de retrouver toutes les observations, mais 37 fois, cliniquement, le diagnostic de toxoplasmose a pu être confirmé. Nous étudierons donc la valeur sémiologique des tests au Kaolin et à la Bentonite, successivement dans les cas de toxoplasmose ganglionnaire, ophtalmologique, obstétricale, et dans certaines observations isolées.

I. — TOXPLASMOSE GANGLIONNAIRE

(Observations 1 à 25)

Les 25 observations que nous avons retrouvées sont différentes de celles rapportées dans la thèse de P. DEBEAUX (Lyon 1963).

Nous les analysons d'une façon schématique :

AGE : compris entre trois et cinquante-trois ans, la plus grande fréquence s'observant autour de vingt-trois ans.

SEXE : indifférent.

FIÈVRE : absente ou minime (38°) sauf dans une observation (39°7).

La vitesse de sédimentation est sensiblement normale.

L'asthénie est persistante.

ANGINE : peu fréquente (six cas) et deux fois s'accompagne d'aphtes buccaux.

ADÉNOPATHIES : localisées, le plus souvent aux régions cervicales postérieures (nuque, ganglions rétro-auriculaires). Les ganglions sont de petite taille (d'une lentille à une noisette). Ils sont remarquables par leur chronicité (trois à quatre mois). Nous avons une observation d'adénopathie crurale suppurée.

AUTRES SYMPTOMES : des céphalées et des courbatures dans deux cas.

Des troubles digestifs une fois.

Un exanthème : un cas.

Il n'a jamais été noté de splénomégalie ni d'hépatomégalie.

TABLEAU HÉMATOLOGIQUE.

Légère anémie ou chiffre normal.

Leucocytose normale le plus souvent (7 à 8.000).

Légère monocytose d'ailleurs inconstante, à 50 % environ, portant sur les lymphocytes et les moyens mononucléaires, avec cellules hyperbasophiles rares.

CYTOLOGIE GANGLIONNAIRE.

Signes de réticulite bénigne avec ganglion riche à fond de lymphocytes et même de lymphoblastes.

Aspect d'hyperplasie réticulaire marquée avec quelques cellules épithélioïdes.

LE TEST DE PAUL ET BRUNNEL est toujours négatif.

Nos observations, en plus du tableau clinique très évocateur, sont rapportées à la toxoplasmose sur les preuves sérologiques que nous donnons dans les tableaux suivants.

Observ. n°	Test de lyse	Fixation du complément	Bentonite	Dates
1	1/200°	1/40°	0	10-1962
2	1/200°	1/40°	1/40°	10-1962
3	1/1000°	1/320°	1/40°	11-1962
4	1/200°	1/80°	1/20°	11-1962
5	1/200°	1/40°	1/10°	11-1962
6	1/20°	1/40°	0	11-1962
	1/20°	1/5°	1/10°	2-1963
7	1/200°	anti C	1/10°	20-2-1963
	1/200°	1/40°	1/40°	28-2-1963
8	1/200°	1/80°	1/40°	4-1963
9	1/1000°	0	1/10°	8-1963
10	1/200°	1/320°	1/80°	11-1963
11	1/1000°	0	1/40°	12-1963

Observ. n°	Test de lyse	Fixation du complément	Kaolin	Dates
12	1/50°	1/40°	1/200°	2-1964
13	1/2000°	1/160°	1/640°	2-1964
	1/200°	1/160°	1/200°	4-1964
14	1/200°	1/160°	1/320°	4-3-1964
	1/200°	1/320°	1/200°	25-3-1964
15	1/1000°	1/160°	1/320°	3-1964
16	1/1000°	1/320°	1/1000°	3-1964
17	1/1000°	1/320°	1/200°	3-1964
18	1/1000°	1/10°	1/100°	7-4-1964
	1/200°	1/160°	1/100°	22-4-1964
19	1/200°	1/160°	1/320°	4-1964
20	1/200°	1/40°	1/200°	5-1964
21	1/200°	1/40°	1/200°	5-1964
	1/50°	1/160°	1/200°	7-1-1964
22	1/200°	1/80°	1/200°	6-1964
23	1/2000°	1/160°	1/800°	6-1964
24	1/200°	1/160°	1/200°	6-1964
25	1/200°	1/40°	1/200°	4-1964

Devant ces résultats, on constate que le test à la Bentonite et le test au Kaolin ne se superposent pas, et que c'est le test au Kaolin qui a nettement la prééminence.

En effet, le test à la Bentonite :

- a été négatif deux fois sur les 13 sérologies ;
- il n'est monté qu'une fois à un titre de $1/80^e$, le reste des sérologies se situant entre $1/10^e$ et $1/40^e$.

Si l'on devait retenir un titre significatif pour le test à la Bentonite, il ne faudrait considérer que les taux supérieurs ou égaux à $1/40^e$ puisqu'il y a 5 des sérologies à ce titre.

Ainsi, si l'on s'était adressé à cette seule sérologie, on n'aurait fait le diagnostic de toxoplasmose que six fois sur treize.

Par contre, les résultats obtenus avec le test au Kaolin sont beaucoup plus satisfaisants.

Sur les 18 sérologies provenant de 14 malades, aucune n'est négative. Les titres se répartissent de la façon suivante :

$1/100^e$	$1/200^e$	$1/320^e$	$1/640^e$	$1/800^e$	$1/1000^e$
2	10	3	1	1	1

C'est donc le taux de $1/200^e$ qu'il faut retenir comme significatif. Ainsi, si l'on s'était adressé au seul test au Kaolin, on aurait pu faire le diagnostic de toxoplasmose pour treize malades sur quatorze.

Une fois au moins, elle aurait permis d'affirmer le diagnostic en association avec la fixation du complément ; on n'aurait pas pu le faire si l'on s'était seulement tenu au résultat du test de lyse qui titrait $1/50^e$, taux habituellement non significatif pour cette catégorie de malades.

En tout cas, l'adjonction de cette troisième sérologie aux deux précédentes permet de compléter le tableau sérologique, car dans toutes les observations, il y a au moins deux sérologies sur trois qui sont très significatives.

II. — TOXOPLASMOSE OBSTETRICALE

(Observations 26 à 33)

Pour ces huit observations, la toxoplasmose était toujours passée inaperçue chez la mère, et ce n'est qu'*a posteriori*, devant le tableau clinique présenté par l'enfant, que le diagnostic a pu être porté, dans les services d'obstétrique, de pédiatrie ou d'ophtalmologie.

En effet, les enfants présentaient toujours certains des symptômes classiquement décrits :

- malformations ophtalmologiques,
- calcifications intra-craniennes,
- signes de déficit ou d'irritation neurologiques.

Pour une observation, c'est la sérologie pratiquée de façon systématique à la suite d'un avortement, qui a pu faire attribuer celui-ci à la toxoplasmose, mais il n'y a pas eu de vérification du fœtus.

Nous avons groupé les sérologies sous forme de tableau, rapportant à la fois la sérologie de la mère et de l'enfant, quand cela a été possible, et les résultats obtenus pour des examens successifs.

Voir tableau page 62

Observ. n°		Test de lyse	Fixation du complément	Kaolin	Date	Observations
26	Mère	1/1000°	1/10°	1/320°	2-4-1964	Naissance prématurée à sept mois. Tableau clinique complet avec hé- patosplénomégalie.
	Enfant 2 mois	1/200°	0	1/80°	2-4-1964	Décès au troisième mois.
27	Mère	1/1000°	1/160°	1/800°		Tableau clinique classique: — malformations oculaires, — calcifications intracrâniennes, — déficit neurologique.
	Enfant 4 mois	1/50°	0	1/50°		
28	Mère	(1/4000°)				Malformations ophtalmologiques.
	Enfant 1 an	(1/3000°) 1/200°	1/10°	1/10°	3-1963	Les titres de 1/3000° et 1/4000° avaient été obtenus par DESMONTS à Paris.
29	Enfant 2 ans	1/200°	0	1/40°	2-1-1964	Menace d'avortement au 6° mois.
		1/260°	1/320°	1/320°	23-3-1964	Tableau clinique classique.
30	Enfant 2 ans	1/20°	1/40°	1/80°	20-4-1964	Tableau clinique classique. Episode méningéitique aigu.
31	Enfant 6 ans	1/200°	1/20°	1/100°	8-7-1964	Malformations ophtalmologiques cicatricielles.
		1/50°	1/10°	1/50°	29-7-1964	
32	Mère	1/1000°	?	?	19-1-1961	Naissance d'un enfant mort-né pré- sentant des malformations.
		0	0	0	25-2-1963	
		1/200°	1/80°	1/200°	17-7-1964	Nouvelle grossesse avec réascension des anticorps.
33	Mère	1/1000°	0	Bentonite 1/40°	10-1963	Avortement au 6° mois.

Dans ces huit cas de toxoplasmose obstétricale, la réaction par agglutination des particules de Kaolin sensibilisées complète de façon intéressante le clavier sérologique, et de ce fait, permet d'avoir une preuve supplémentaire quand il atteint, là encore, le titre de 1/200°.

III. — TOXOPLASMOSE OPHTALMOLOGIQUE

(Observations 34 à 37)

La frontière entre les formes acquises et congénitales de la toxoplasmose oculaire est difficile à déterminer.

En effet, on a pu observer des rechutes d'une toxoplasmose congénitale après trente-six ans d'évolution et l'on sait que la chorio-rétinite toxoplasmique peut être une complication, rare, mais possible, d'une infection très antérieure qui a pu passer inaperçue.

Comme il n'y a pas de titre significatif en matière de toxoplasmose oculaire, les observations retrouvées dans les services d'ophtalmologie correspondant souvent à des taux inférieurs à ceux que nous avons retenus pour les formes cliniques précédentes.

La preuve de l'étiologie toxoplasmique a pu être faite une fois par le dosage des anticorps dans la chambre antérieure de l'œil, mais cet examen n'a pas été pratiqué par notre laboratoire (DESMONTS, Paris).

Les sérologies de ces quatre observations sont groupées dans le tableau suivant.

Observ. n°	Test de lyse	Fixation du complément	Bentonite	Date	Observations
34	1/20°	1/20°	1/20°	10-1962	Femme de quarante-quatre ans qui présente une desmélite en guirlande avec poussées évolutives. Première poussée d'uvéïte en 1960.
	1/200°	0	0	10-1963	
			Kaolin		
	1/20°	1/10°	1/80°	4-1964	
35	1/20°	0	1/10°	11-1962	Garçon de seize ans. Uvéïte totale bilatérale récidivant avec grosse participation choroïdienne. Ponction positive de la chambre antérieure (DESMONTS).
	1/20°	1/5°	1/20°	12-1962	
36	0	0	0	20-1-1964	Enfant de neuf ans. Boutons congglomératifs de chorioretinite. Gingivite et adénopathie sous maxillaire.
	1/20°	1/20°	1/100°	27-1-1964	
37	1/20°	0	1/50°	5-5-1964	Lésions fraîches de desmélite et choroïdite chez un enfant de onze ans.
	1/50°	0	1/50°	28-5-1964	
	1/50°	1/10°	1/50°	15-7-1964	

En matière de toxoplasmose oculaire, le diagnostic sérologique est plus compliqué, il faut certainement se contenter de titres beaucoup plus faibles :

- Entre 1/50^e et 1/200^e pour le test de lyse.
- A des titres variables mais inférieurs au 1/40^e pour la fixation du complément.

Dans ces formes cliniques, une troisième sérologie, comme l'agglutination des particules de Kaolin, est intéressante. En effet, dans les cas où nous l'avons pratiquée, elle a toujours donné un titre voisin de 1/50^e ou supérieur.

Par conséquent, là encore, le test au Kaolin permet de confirmer les titres obtenus avec les autres sérologies, et c'est finalement dans ces cas de toxoplasmoses oculaires, congénitales ou acquises, que le test au Kaolin trouve son application la plus fructueuse. C'est tout au moins ce qu'il nous semble sur une première mais trop courte série d'observations. Une expérience plus longue est nécessaire.

IV. — OBSERVATIONS ISOLEES

Toxoplasmose généralisée (Observation 38 - Service du D^r Fraisse, Saint-Etienne).

Le tableau clinique présenté par cette malade de douze ans était sévère :

- début de l'affection le 15 avril 1964 ;
- douleurs abdominales diffuses ;
- éruption prurigineuse ;
- hépatomégalie avec ictère net - splénomégalie ;
- fièvre ;
- petite réaction pleurale ;
- syndrome lymphadénique avec adénopathies des différents territoires superficiels ;
- numération formule de type leucémoïde (122.000 globules blancs - éosinophilie à 20 %).

Disparition rapide et complète des symptômes sous traitement (Rovamycine : 3 gr - Trisulfazine : 3 gr - Cortancyl : 20 mg).

Preuve sérologique de la toxoplasmose

N° Obs.	Test de lyse	Fixation du complément	Kaolin	Date
38	1/1000°	1/320°	1/640°	5-1964
	1/200°	1/10°	1/200°	6-1964 après traitement

Toxoplasmose sérologique (Observation 39).

Syndrome de GUILLAIN et BARRÉ avec quadriplégie flasque chez un enfant de deux ans. Bonne récupération.

La sérologie pratiquée à titre systématique a donné les titres suivants :

N° Obs.	Test de lyse	Fixation du complément	Kaolin	Date
39	1/20°	1/10°	1/20°	2-4-1964
	1/1000°	1/80°	1/320°	27-4-1964
	1/200°	1/20°	1/320°	25-5-1964

Cette observation pose le problème des rapports possibles entre la toxoplasmose et un syndrome de polyradiculonévrite aiguë type de GUILLAIN et BARRÉ.

Pour ces deux observations, encore, les titres obtenus avec le test au Kaolin sont rigoureusement parallèles à ceux des deux autres sérologies, et apportent une confirmation supplémentaire.

V. — OBSERVATIONS DISCUTABLES

(Observations 40, 41, 42)

Mais en dehors de ces cas où la toxoplasmose paraissait indubitable, il se trouvait des malades chez lesquels la sérologie, à des titres pourtant significatifs, ne pouvait expliquer

toutes les manifestations cliniques, où s'ajoutait un autre diagnostic déjà porté avec certitude.

Dans ces conditions, on peut discuter :

— Une affection toxoplasmique concomitante à une autre maladie responsable des symptômes.

— Une libération ou une activation de toxoplasmes enkystés avec ascension des anticorps au cours d'une autre affection, chez un malade anciennement et chroniquement infesté.

— Une perturbation générale des sérologies par un processus pathologique polysensibilisant, d'autres sérologies s'étant aussi, parfois, montrées faussement positives.

Voici les titres obtenus pour nos trois observations et les diagnostics qui ont été retenus.

N° Obs.	Test de lyse	Fixation du complément	Kaolin	Date	
40	1/200°	1/80°	1/100°	6-1964	Manifestations paraneoplasiques d'un cancer digestif.
	1/50°	1/10°	1/50°	7/1964	
41	1/1000°	1/40°	0	20-2-1964	Lymphose splénomégalyque ?
	1/200°	1/10°	1/50°	15-6-1964	
42	1/1000°	0	1/40°		Maladie de Hodgkin?

Si pour l'observation 40, le diagnostic ne se discute pas, il n'en est pas de même pour la lymphose splénomégalyque (41).

En effet, au dernier examen, la rate n'était pas palpable, la numération formule normalisée, le diagnostic remis en question, et la possibilité de la toxoplasmose non écartée.

Quant à la première sérologie négative avec le test au Kaolin, il peut très bien s'agir d'une erreur de technique, la méthode, à cette date, en étant encore à sa mise au point.

Pour l'observation 42, le malade n'a pas été revu depuis le moment où le diagnostic de maladie de HODGKIN a été porté.

Les comptes rendus de biopsies étaient contradictoires, le D^r MOREL affirmant le diagnostic de HODGKIN, le professeur REVOL le soulevant seulement. Or, l'expérience nous a montré que dans les observations de toxoplasmose ganglionnaire, un certain nombre de biopsies faisaient porter à l'étude cytologique le diagnostic de HODGKIN. Il nous manque pour le moment l'épreuve du temps.

Dans les trois cas, le test au Kaolin s'est comporté comme les sérologies classiques, peut-être cependant à un titre moindre.

De toute façon, il n'apportait pas de précisions complémentaires.

**

Enfin, le plus grand nombre des sérologies trouvées positives, ne le sont que faiblement.

Pour des titres de 1/200^e à 1/20^e, elles peuvent témoigner :

- d'une affection toxoplasmique au début comme des sérologies ultérieures ont pu nous le prouver quelquefois, en accusant un taux supérieur à des examens successifs ;
- ou bien d'une affection plus ancienne, qui a pu passer inaperçue, et dont des anticorps résiduels subsistent.

Les faibles sérologies traduisent seulement un contact passé avec la toxoplasme, qui a entraîné la formation d'anticorps. Ces anticorps peuvent persister toute la vie du sujet.

A cet égard, ces 400 sérologies qui ne sont pas significatives d'une affection toxoplasmique récente ou évolutive, donnent une idée de la fréquence du parasitage par le toxoplasme.

Ce chiffre est sans doute élevé, car notre étude porte toujours sur des sérums provenant de malades suspects de contamination toxoplasmique.

Pour corriger un peu ce défaut par excès, il est certain que bien des toxoplasmoses sans traduction clinique ne bénéficient pas d'un dosage d'anticorps.

Dans le cadre d'une enquête épidémiologique concernant la toxoplasmose, le test par agglutination au Kaolin trouverait une application de choix, et remplacerait avantageusement l'intradermoréaction à la toxoplasmine.

La simplicité de la méthode et son coût peu élevé sont en effet fort intéressants.

CONCLUSION

Pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose, les tests par agglutination de particules sensibilisées (Hématies, Collodion, Latex, Plastique, Bentonite, Kaolin), sont des travaux à l'honneur dans de très nombreux laboratoires.

Mais il n'est pas pour autant question qu'ils puissent se substituer aux deux tests de routine : test de SABIN et FELDMAN et fixation du complément, dont la spécificité et la sensibilité sont remarquables.

Cependant, on peut envisager qu'ils puissent prendre place à côté des deux chefs de file, dans une batterie de tests comme pour le diagnostic de la syphilis.

Notre travail au laboratoire de parasitologie de la Faculté de Médecine de Lyon, sous la direction du Professeur J. COUDERT, porte sur l'étude de 1.393 sérums testés avec les particules de Bentonite et sur 698 sérums testés avec les particules de Kaolin.

Chacune de ces réactions a été comparée successivement aux résultats obtenus avec le test de SABIN et FELDMAN et la réaction de fixation du complément.

La concordance stricte avec le dye-test est obtenue dans 85 % des cas pour le test à la Bentonite, dans 93 % des cas pour le test au Kaolin. On peut donc conclure que ce dernier est bien supérieur au test à la Bentonite.

Les différentes confrontations nous amènent à conclure que les résultats trouvés avec l'agglutination des particules de Kaolin sont beaucoup plus proches de ceux obtenus par le test de SABIN et FELDMAN que de ceux obtenus par la fixation du complément. Le test par l'agglutination des particules de Kaolin est cependant moins sensible que le dye-test.

Sa spécificité et sa sensibilité sont intéressantes. Il est facilement reproductible. Il ne nécessite pas de facteur accessoire, la solution antigénique se conserve plusieurs mois, la manipulation est rapide et facile.

Les résultats sérologiques ont été confrontés avec les observations cliniques pour 42 sérologies positives :

39 observations cliniquement certaines où la sérologie au Kaolin ou à la Bentonite complètent le tableau sérologique ;

3 observations où la sérologie toxoplasmique classique, comme le test au Kaolin, correspond à une erreur de diagnostic.

Peut-être, certains laboratoires pourraient-ils pratiquer la réaction d'agglutination des particules de Kaolin sensibilisées alors qu'ils ne sont pas équipés pour le test de SABIN et FELDMAN ou la fixation du complément. Ceci permettrait une sélection valable des sérums positifs puisque nous avons vu que les erreurs d'estimation par défaut étaient négligeables avec ce test. Pour un titrage plus précis des anticorps, ces seuls sérums

positifs pourraient ensuite être soumis dans d'autres laboratoires au dye-test et à la fixation du complément.

On peut penser que dans l'avenir la réaction d'agglutination des particules de Kaolin pourra être valablement associée, si elle ne peut les remplacer, au test de SABIN et FELDMAN et à la déviation du complément.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 25 septembre 1964

Le Président de la Thèse :

P^r COUDERT

Vu, le Doyen :

J.-F. CIER

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université :

P. LOUIS.

BIBLIOGRAPHIE

- ANGELILLO (B.) et MANDDRAS (A.). — Sull'impiego dell'emoagglutinazione nella diagnosi di toxoplasmosi. *Igiene Mod.* T. 52, p. 175-181, 1959.
- La reazione di emoagglutinazione nella diagnosi di toxoplasmosi. *Parassitologia*, t. 2, p. 1-2, 1960.
- BEVERLEY (J.K.A.). — The laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Recent Advanc. Clin. Path.*, sér. III, p. 38-57, 1960.
- BOZDECH (V.) et JIRA (J.). — Hemagglutinaai reakce 1 toxoplasmosy antigenem. *Cas. Lek. Ces. Prague*, T. 97, p. 375-376, 1958.
- Latex. Agglutinationstest mit dem Toxoplasmaantigen. *Deutsch Gesundh.* T. 51, p. 2398-2400, 1961.
- BOZICEVITCH et coll. — Bentonite flocculation test of rheumatoid arthritis. *J. of Immunology*. T. 97, p. 180-183, 1958.
- COLY (M.). — Essai d'application de la réaction d'agglutination des particules de collodion à quelques parasitoses. *Thèse Lyon*, 63 p., 1956.
- COUDERT (J.) et GIBERT (Y.). — L'agglutination des particules sensibilisées de Bentonite, application au diagnostic de quelques parasitoses tissulaires. *Bull. Assoc. Diplôm. Microb. Fac. Méd. Nancy*, n° 81, 1961.
- DEBEAUX (Paul). — Contribution à l'étude des réticulites ganglionnaires bénignes. (Mononucléose infectieuse, toxoplasmose, lymphoréticulose bénigne d'inoculation). *Thèse Lyon*, 1963.
- DESARM (W.), KELEN (A.E.) et LABZOFFSKY (N.A.). — Comparison of serological tests in toxoplasmosis. *Canadian Med. Ass. J.*, v. 87, n° 11, p. 604-7, sept. 1962.
- DESMONTS (G.). — Sérologie de la toxoplasmose. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, t. 19, p. 13-28, 1961.
- Diagnostic sérologique de la toxoplasmose. *Sem. Hôp. Paris (Path. Biol.)*, t. 8, p. 109-125, 1960.
- FISH (N.A.). — Toxoplasmosis diagnosis by serological and cultural methods. *Canad. J. Public. Health*, t. 52, p. 107-110, 1961.

- FLECK (D.G.) et PAYNE (R.A.). — Tests for toxoplasma antibody. *Monthly Bull. Ministr. Hlth.* (Lond.), t. 22, p. 97-102, 1963.
- FLECK (D.G.). — Serological tests for toxoplasmosis. *Nature* (Lond.), t. 190, p. 1018-1019, 1961.
- FRANÇOIS (J.). — La toxoplasmose et ses manifestations oculaires. *Masson*, Editeur, 1963.
- FULTON (J.D.) et TURK (J.L.). — Direct agglutination test for toxoplasma *Gondii*. *Lancet*. T. 2, p. 1068-1069, 1959.
- GARIN (J.P.). — Note préliminaire sur l'essai de nouvelles techniques sérologiques adaptées au diagnostic de la toxoplasmose. *Sem. Hôp. Paris* (Path. Biol.), t. 8, p. 127-130, 1960.
- Les méthodes de laboratoire appliquées au diagnostic de la toxoplasmose humaine. *Rev. Hyg. Méd. Soc.*, t. 10, p. 218-248, 1962.
- GIBERT (Y.). — Application de l'agglutination des particules de Bentonite sensibilisées en parasitologie. *Thèse Lyon*, 1960.
- JACOBS (L.). — The hemagglutination test for toxoplasmosis. *Conference on the Laboratory diagnosis of toxoplasmosis in man and animal*. August, pages 24-27, 1959.
- JACOBS (L.) et LUNDE (M.N.). — Hemagglutination test for toxoplasmosis. *Science*, T. 125, p. 1035, 1957, et *J. Parasit.*, T. 43, p. 308-314, 1957.
- JENNIS. — Toxoplasmosis in New-South Wales A serological survey. *Australian J. Exper. Biol. et Med. Sc.*, 2 p. 187-197, 1963.
- KAUFMAN (H.E.). — Laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Survey Ophthalm.* t. 6, p. 877-882, 1961.
- KNIERIM (F.), NIEDMANN (G.) et THERMANN (E.). — The hemagglutination test used in serological diagnosis of toxoplasmosis. *Bol. Child. Parasit.*, t. 15, p. 48-50, 1960.
- KOERTING (H.J.). — Laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Deutsch Gesundh.*, t. 16, p. 618-623, 1961.
- LAKE (B.). — The diagnosis of adult toxoplasmosis. *Med. J. Australia*, v. 2, n° 7, p. 269-271, 1963.
- LEWIS (W.P.), KESSEL (J.), ONSLOW (J.), DOHENY (E.). — A hemagglutination test for toxoplasmosis using human erythrocytes. *The 24° Annual Ch. Franklin Craig lecture Am. J. Trop. Med. Hyg.*, t. 9, p. 219, 1960.
- LEWIS (W.P.) et KESSEL (J.F.). — Hemagglutination in the diagnosis of toxoplasmosis and amebiasis. *Arch. Ophthalm. Chicago*, t. 66, p. 471-476, 1961.
- LUNDE (M.N.) et JACOBS (L.). — Characteristics of the « toxoplasma » hemagglutination test antigen. *J. Immunol.*, T. 82, p. 146-150, 1959.
- A comparison of results of hemagglutination and dye-tests for toxoplasmosis in a survey of trinidad natives. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, T. 6, p. 523, 1958.
- Toxoplasma hemagglutination and dye-test antibodies in experimentally infected rats. *J. Parasitology*, V. 49, n° 6, p. 932-936, 1963.

- MALONEY (E.D.) et KAUFMAN (H.E.). — The rapid and convenient detection of toxoplasma antibodies using formaldehyde treated human erythrocytes. *Amer. J. Ophthalm.*, t. 50, p. 945-950, 1960.
- MITCHELL (R.G.) et GREEN (C.A.). — The hemagglutination test for toxoplasma antibodies. *J. Clin. Path.*, V. 13, n° 4, p. 331-335, 1960.
- MORALÈS (A.), MOSCA (A.), SILVA, SILVIA, SIMS (A.), THIERMANN, ERICA, KNIERIM, FELIZA et ATIAS (A.). — Estudio serologico sobre toxoplasmosis y otras parasitosis en Isla de Pascua (Serological Survey of Toxoplasmosis and other Parasitoses on Easter Island). *Bol. Chileno de Parasito*, V. 16, n° 4, p. 82-87, 1961.
- PARK (H.K.). — Toxoplasma hemagglutination test. Using alcohol formalin fixed sensitized morphilized erythrocytes. *A.M.A. Arch. Ophthalm.*, t. 65, p. 184-191, 1961.
- REVOL (L.), GARIN (J.P.), DEBEAUX (P.), BATTESTI (M^{lle}), MOREL (M.P.) et GENTILHOMME (M^{me} O.). — Toxoplasmose ganglionnaire acquise et mononucléose infectieuse. *Le Journal de Médecine de Lyon*, p. 901-911, mai 1964.
- REUSS (K.). — Untersuchungen zur Hämagglutinations - Reaktion auf Toxoplasmose nach Jacobs und Lunde (La réaction d'hémagglutination selon Jacobs et Lunde pour la Toxoplasmose). *Z. Immun. Forsch.*, t. 121, p. 75-90, 1961.
- ROTH (W.). — The laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Bibli. Gynaec.*, t. 22, p. 1-40, 1961.
- SCHMIDTKE (L.) et MOEBEST (H.). — A contribution to the serological diagnosis of toxoplasmosis. *Zbl. Bak.*, t. 179, p. 141-147, 1960.
- SIIM (J.C.) et LIND (K.). — A toxoplasma flocculation test. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, t. 50, p. 445-446, 1960.
- SIIM (J.C.). — The « Toxoplasma » flocculation test. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, suppl. 154, p. 331, 1962.
-

TABLE DES MATIERES

Introduction	17
Historique	19
Agglutination des particules de Bentonite	27
Agglutination des particules de Kaolin	33
Agglutination des particules de Bentonite - Enquête sérologique	37
Agglutination des particules de Kaolin - Enquête sérologique	49
Confrontation clinique	57
Conclusions	69
Bibliographie	73

Imprimerie GRENIER & FILS
215, Avenue Charles de Gaulle
TASSIN - LA - DEMI - LUNE
(Rhône)
